

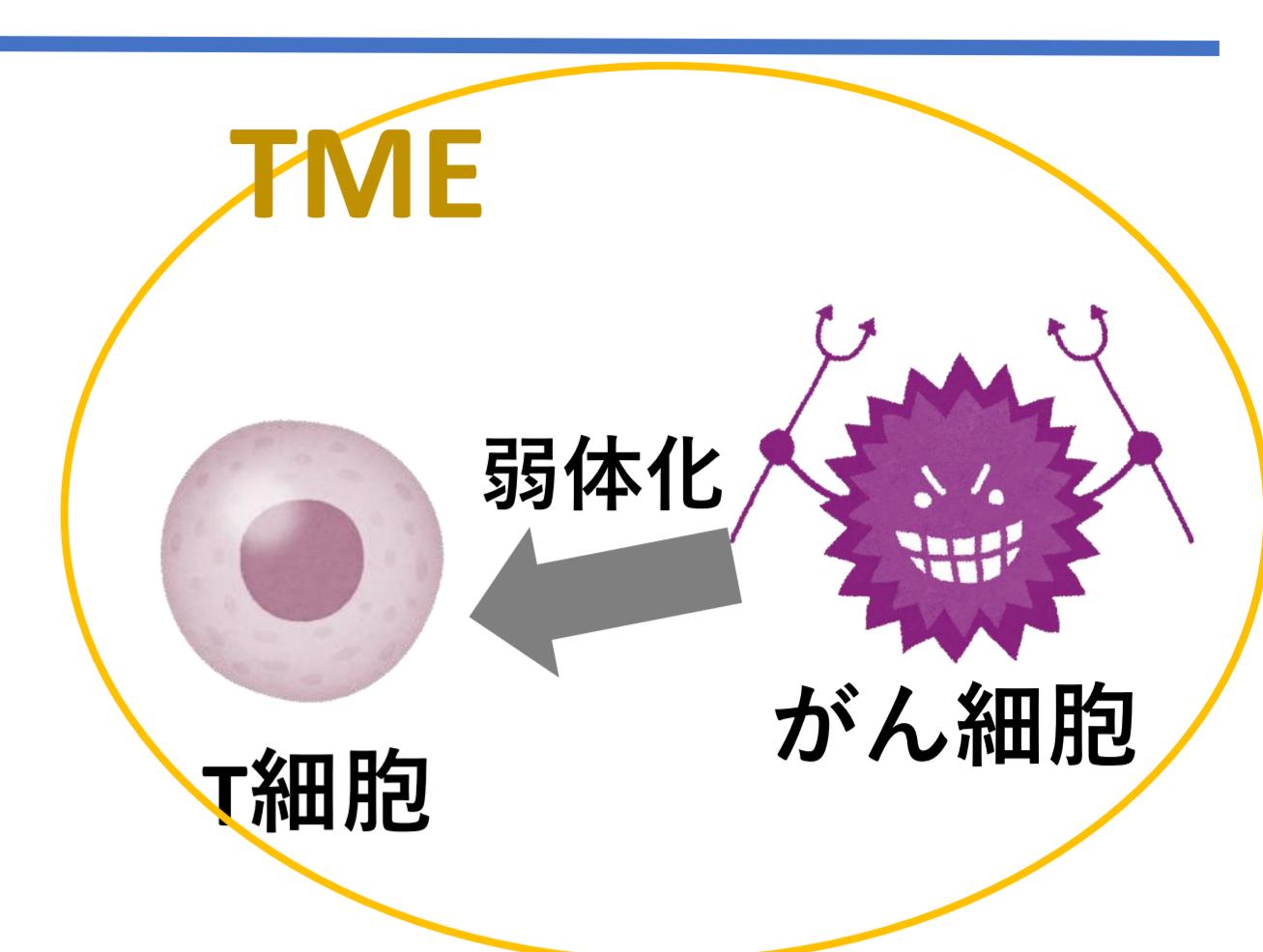
Y 研究アイデアの概要 Y

青色光照射で解離する光応答性タンパク質を免疫応答に応用し、腫瘍免疫の新たな展開につなげたい。キラーT細胞を遺伝子組換えして光応答タンパク質を発現させ、標的組織に光を照射することで局所的なシグナル增幅が期待できる。



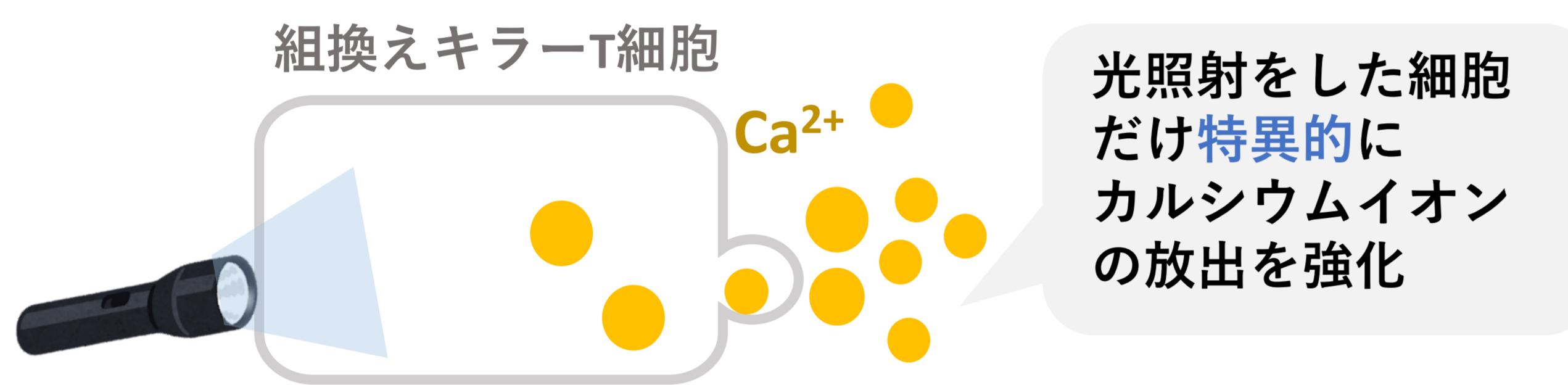
Y 背景 Y

日本における死亡率の一位はがんでありその治療法の確立は喫緊の課題である。しかし、がん細胞の周囲はTME（腫瘍微小環境）が広がっており、T細胞が弱体化されてしまう現象が起こる。そこで免疫応答を局所的に活性化させることで、この問題を解決できるのではないかと考えた。

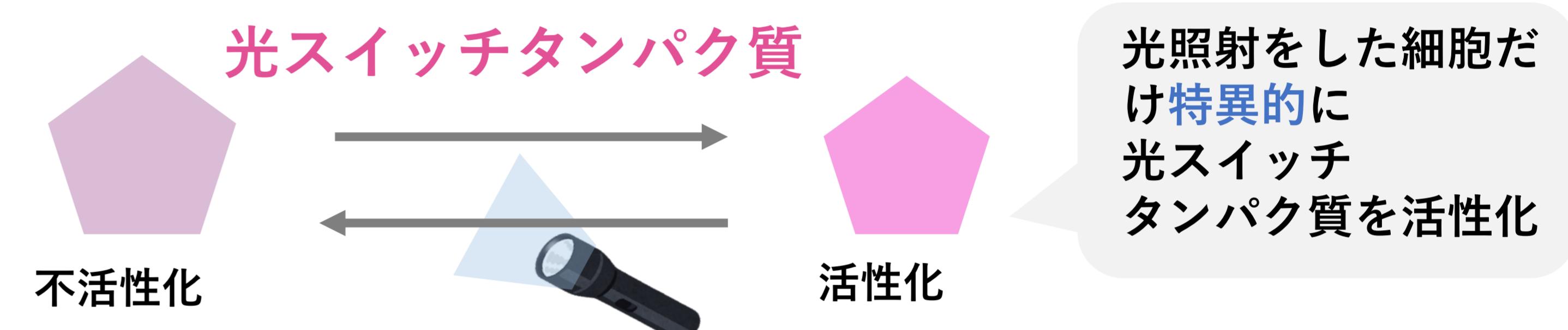


Y 既存の研究 Y

- 攻撃タンパク質の放出に直接かかわる機構の光制御は Ca^{2+} 流入の誘導が中心[2]。
- 優位性が見られる一方で Ca^{2+} の制御より特異的な制御手段が求められる。



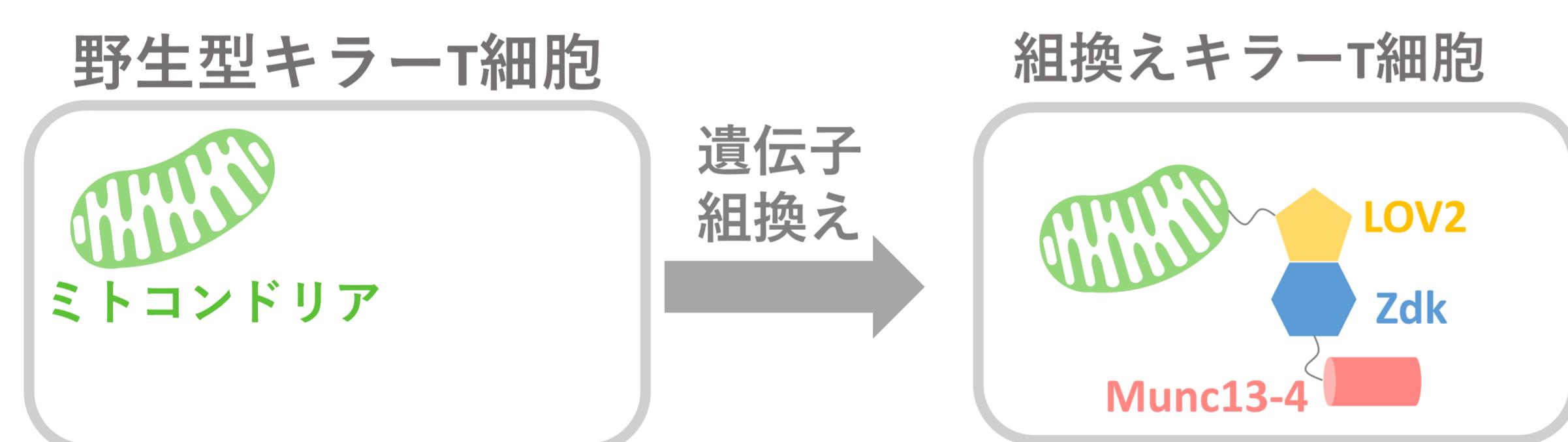
- 光応答性タンパク質は、光の照射により立体構造が変化するものやスプリットにしたタンパク質の会合・解離を光で制御する系を含め、多様に開発が進んでいる[3]。
- より長波長光に応答するよう改良されたものも報告されており医療への応用が期待されている



Y 実験計画 Y

1. 遺伝子組換え LOVTRAPシステムの発現

- キラーT細胞を遺伝子組換えして、ミトコンドリア結合アンカーと光スイッチタンパク質 (LOV2,Zdk) と膜融合促進タンパク質 (Munc13-4) の複合体を発現させる。
- Munc13-4は膜融合に必須なタンパク質であり、過剰発現することで攻撃タンパク質の放出が強化されると考えられる。



2. アッセイ 光スイッチのチェック

- 消灯時は過剰に発現させたMunc13-4はミトコンドリアに結合している。光を照射すると光スイッチタンパク質が解離し、Munc13-4が膜融合を促進することで攻撃タンパク質が放出される。
- 攻撃タンパク質に付随するCD107aを標識することでアッセイする[4]。



Y 研究の意義 Y

本研究は、免疫応答の活性化を制御する手法の概念実証として高い意義を有する。イオン流入の調節にとどまらず、より選択的な分子レベルでの制御が可能であることを示すことで、他の標的分子への応用可能性を示唆する。今後新たに、基礎研究によって免疫応答に重要な分子が同定された際には、迅速に制御システムを設計・実装するための確かな足掛かりとなる。

実装面についてもT細胞を用いた医療は臨床での知見が蓄積しており、関連する製造・投与フレームワークを活用できるため、比較的円滑に開発を進められる可能性が高い。

Y 参考文献 Y

- [1] Joyce, J. A., & Fearon, D. T. (2015). T cell exclusion, immune privilege, and the tumor microenvironment. *Science*, 348(6230), 74–80. <https://doi.org/10.1126/science.aaa6204>
- [2] Kim, K., Bae, S., Capece, T., Nedelkovska, H., De Rubio, R. G., Smrcka, A. V., Jun, C., Jung, W., Park, B., Kim, T., & Kim, M. (2017). Targeted calcium influx boosts cytotoxic T lymphocyte function in the tumour microenvironment. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/ncomms15365>
- [3] Wang, H., Vilela, M., Winkler, A., Tarnawski, M., Schlichting, I., Yumerefendi, H., Kuhlman, B., Liu, R., Danuser, G., & Hahn, K. M. (2016). LOVTRAP: an optogenetic system for photoinduced protein dissociation. *Nature Methods*, 13(9), 755–758. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3926>
- [4] Betts, M. R., Brenchley, J. M., Price, D. A., De Rosa, S. C., Douek, D. C., Roederer, M., & Koup, R. A. (2003). Sensitive and viable identification of antigen-specific CD8+ T cells by a flow cytometric assay for degranulation. *Journal of Immunological Methods*, 281(1–2), 65–78. [https://doi.org/10.1016/s0022-1759\(03\)00265-5](https://doi.org/10.1016/s0022-1759(03)00265-5)